OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Mechanism of MBP (myelin basic protein) core promoter-mediated brain-specific transcription : Isolation of the mouse TBP (TATA -box binding protein) cDNA and genome
Author(s)	角田, 恒輔
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38852
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏名	角田恒輔（すみた こうすけ）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 11223 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	Mechanism of MBP（myelin basic protein）core promoter-mediated brain-specific transcription : Isolation of the mouse TBP（TATA-box binding protein）cDNA and genome （ミエリン塩基性蛋白質コアプロモーターの神経系特異的転写のメカニズム：マウスTATA-box結合因子cDNAおよび遺伝子の単離）
論文審査委員	（主査） 教授 畠中 寛 （副査） 教授 京極 好正　教授 小川 英行　東京大学教授 御子柴克彦

論文内容の要旨

転写開始点近傍のProximalプロモーターには実際に転写を行う基本転写因子群（TATA-box結合因子，RNA Polymerase等）が結合し，上流のDistalプロモーターには組織特異的な転写促進因子や抑制因子などが結合しProximalプロモーター上の基本転写因子群の機能制御を行っていると考えられている。

我々は，以前からマウスのミエリン塩基性蛋白質（MBP）のプロモーターを用いて神経系特異的転写制御機構の解析を行ってきたが，脳と肝臓の2種類の組織の核抽出液を用いて検討を行ったところ，MBP Proximalプロモーターの転写について，−36から+12塩基対のコアプロモーターのみでも脳核抽出液中で特異的に転写されることがわかり，基本転写因子の中に組織特異的な因子の存在が示唆される。そこで，基本転写因子の一つであるTFIID（TATA-box結合能を有する）を核抽出液より調整し調べたところ，加熱処理によりTFIID活性を失活させた核抽出液に脳由来のTFIIDを加えたとき特異的にMBPコアプロモーターの転写が見られた。このことは，脳特異的な基本転写因子がTFIID分画に存在していることを示唆している。そこでマウス脳よりTFIIDのcDNAを単離し，その構造の解析を行った（後にこの因子はTATA-box結合因子（TATA-box binding protein；TBP）と命名された）。マウスTBP cDNAは316個のアミノ酸をコードし，HeLa細胞から分離されたヒトTBPと比較すると，その構造は全体にわたりほぼ同一であった。mRNAのサイズは約2K塩基対で，サザン解析の結果，TBP遺伝子はゲノムハプロイドあたりシングルコピーと予想されたが，微弱なシグナルも検出されTBPに近似した遺伝子の存在の可能性もあるので，マウスTBPのゲノムDNAを単離し解析をした。TBP遺伝子は全長約18K塩基対で7つのエクソンから構成されており，完全にゲノムハプロイドあたりシングルコピーで関連遺伝子は発見できなかった。DNA結合能および転写活性を持つC−末端部分（脊椎動物以上ではアミノ酸レベルで100%と保存されている）は5つのイントロンで分断されており対象的にN−末端部分（種特異的な領域）には1つのイントロンしか存在しなかった。またRT−PCR法を用いた場合，第5エクソンの欠失ミュータントmRNAの存在（マウスでは脳，肝臓，腎臓と今回調べたすべての組織で検出された）が示唆されたが，TBP抗体を用いたウエスタンブロット解析ではバックグランドに隠れてこの欠失ミュータント存在は確認できなかった。C−末端部分は必要不可欠であるのでこの欠失体は機能しないものと予想される。以上の結果より，TBP自身は組織間で同一であると示唆される。一方，MBP Proximalプロモーターを詳細に解析したところ，TATA-box自身ではなく直後の配列（-22から-17bp）が組織特異性にかかわっていることを解明した。最近TFIIDはTBPとTBPに結合している因子（TBP-Associated Factor；TAF）との複合体であるこ

とが明らかになり，MBP コアプロモーターに作用する脳特異的な基本転写因子は作用する配列が TATA-box 近傍であり，TFIID として挙動していることから TAF ではないかと予想している。

論文審査の結果の要旨

本論文では，脳神経系に特異的な転写開始点における基本転写因子群の一つとして，新たにマウス脳より TATA-box 結合因子 TBP cDNA を単離し，ミエリン塩基性蛋白質コアプロモーターの役割について解析した。組織特異的な転写機構制御について重要な知見を得ており，博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。